Aus dem anatomischen Institut in München.

# Über den

# Makro- und mikrochemischen Eisennachweis im Dotter des Hühnereies.

---

Inaugural-Dissertation

verfasst und der

hohen medizinischen Fakultät

der

**Ludwig-Maximilians-Universität zu München**

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

**gesamten Medizin**

vorgelegt von

**Fritz Wassermann**

aus München.

Mit zwei Textfiguren und einer Tafel.

---

Wiesbaden.

Verlag von J. F. Bergmann.

1910.

Aus dem anatomischen Institut in München.

# Über den

# Makro- und mikrochemischen Eisennachweis im Dotter des Hühnereies.

INAUGURAL-DISSERTATION

VERFASST UND DER

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER

**LUDWIG-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT ZU MÜNCHEN**

ZUR

ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

IN DER

**GESAMTEN MEDIZIN**

VORGELEGT VON

**FRITZ WASSERMANN**

AUS MÜNCHEN.

ACAD. LUDOVIC. BIBL.

MIT ZWEI TEXTFIGUREN UND EINER TAFEL.

WIESBADEN.

VERLAG VON J. F. BERGMANN.

1910.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät zu München.

Referent: Prof. Dr. **J. Rückert.**

# Einleitung.

Den relativ hohen Eisengehalt im Dotter des Hühnereies haben in erster Linie die Untersuchungen von Bunge (1) dargetan. Er hat durch Verdauung mit Magensaft aus dem Dotter ein eisenhaltiges Pseudonuclein dargestellt, das er für die Vorstufe des Hämoglobins hielt und deshalb Hämatogen nannte.

Robert Schneider (13) war der erste, welcher darauf hinwies, dass dieser durch die chemische Analyse festgestellte Eisengehalt des Eidotters auch mit jenen Methoden zur Anschauung gebracht werden kann, welche bei morphologischen Untersuchungen von anderen eisenhaltigen Geweben und Organen längst im Gebrauch waren.

In seiner Arbeit über die Eisenresorption in tierischen Organen und Geweben teilt er nämlich mit, dass er die von Perls im Jahre 1867 zum Zwecke des Eisennachweises in den Geweben eingeführte Berliner-Blau-Reaktion auch auf tierische Eier angewandt habe. Aus diesen Versuchen erkannte er, dass „der rein chemisch schon geführte Nachweis sehr allgemeinen Vorhandenseins von Eisen im Ei mit deutlichem Mehrgehalt des Dotters schon im voraus auch den histologischen Verfolg der Sache der Mühe wert erscheinen lassen dürfte".

Eine derartige histologische Untersuchung hat dann im Jahre 1892 Smiechowski (14) unter Barfurth an Hühnerkeimscheiben ausgeführt. Er wollte den Zusammenhang zwischen dem Eisengehalt des Dotters und der embryonalen Blutbildung aufklären. Aber dieser erste Versuch krankt an einer ganz unzureichenden Technik des Eisennachweises; und dieser Fehler hat weiterhin zur Folge, dass die dabei gewonnenen Präparate zu irrigen Schlüssen Veranlassung geben. Insbesondere sind, wie ich zeigen werde, jene Ausführungen Smiechowskis zurückzuweisen, welche die morphologische Charakteristik und die Bedeutung der Hisschen Megasphären betreffen.

Demnach konnte ich an eine Untersuchung über den Eisengehalt im Dotter des Hühnereies nicht herantreten, ohne dabei eine schon von Rückert (12) als wünschenswert bezeichnete Nachprüfung und Berichtigung der Befunde jener Arbeit zu unternehmen. Die Einwände, welche gegen die Untersuchungsmethode Smiechowskis zu erheben sind, werde ich bei der Besprechung der von mir geübten Technik des Eisennachweises darlegen, während die sachliche Berichtigung seiner Befunde aus der Gegenüberstellung meiner eigenen Resultate sich ergeben wird.

Auch ich bin wie Smiechowski an die Frage nach dem Eisengehalt des Dotters im Hinblick auf die Verwendung des Dottereisens zur embryonalen Blutbildung herangetreten. Darin aber liegt ein prinzipieller Unterschied in der Verfolgung des Smiechowski und mir gemeinsamen Zieles, dass ich von eingehenden am Dotter selbst angestellten Versuchen ausgehe, während Smiechowski die Eisenreaktion ausschliesslich an Keimscheiben anwandte und nur nebenbei erwähnt, dass er auch fixierten oder frisch in dünner Schicht auf dem Objektträger aufgetragenen gelben und frischen mit einer fein zugespitzten Glaspipette ausgezogenen weissen Dotter dieser

Methode unterworfen habe, offenbar, um so seine an Keimscheiben gewonnenen Resultate zu sichern.

Als ich durch meine Untersuchungen am Dotter eine sichere Basis gewonnen hatte, wandte auch ich die mikrochemische Eisenreaktion auf die embryonalen Gewebe selbst an in der Hoffnung, den Übergang des Eisens aus dem Dotter in die embryonalen Blutzellen mit dieser Methode darstellen zu können. Indes sind die technischen Schwierigkeiten, die sich hierbei der Erlangung einwandfreier Präparate entgegenstellen, derart, dass ihre Überwindung, wenn sie überhaupt gelingt, noch eine grosse Zahl weiterer Versuche notwendig macht und ich mich daher bei der Veröffentlichung der am Dotter erlangten Befunde bescheiden muss.

An dieser Stelle möchte ich Anlass nehmen, meinem hochverehrten Lehrer und Chef, Herrn Professor Dr. Rückert, für die Anregung zu dieser Untersuchung und die vielfache Unterstützung und wohlwollende Förderung bei der Ausführung derselben meinen aufrichtigen Dank auszusprechen.

## Technik.

Zaleski (14) hat eine zusammenfassende Darstellung der gebräuchlichen makro- und mikrochemischen Eisenreaktionen gegeben. Mit Schwefelammonium wird Eisen in Geweben als grünschwarzes Schwefeleisen gefällt, welche Reaktion im Jahre 1850 von A. Meyer zuerst angewandt wurde; nach Verweilen in gelbem oder rotem Blutlaugensalz und darauffolgender Behandlung mit Salzsäure entsteht in eisenhaltigen Geweben Berlinerblau oder Turnbullsblau; und endlich wird

Eisen durch Einwirken von Rhodankalium und Salzsäure als rotes Rhodaneisen nachgewiesen.

Die letzte Reaktion mit Rhodankalium wurde wegen der Unmöglichkeit, das äusserst labile Rhodaneisen im Präparat festzuhalten, für mikroskopische Untersuchungen bisher nicht verwendet. Ich möchte von ihr nur erwähnen, dass man sie zur Kontrolle der mittels der anderen Reaktionen gewonnenen Bilder sehr wohl heranziehen kann und auch heranziehen soll; denn gerade bei der Vornahme von chemischen Reaktionen an organisierter Substanz, deren Ablauf und mögliche Beeinflussung durch irreführende Faktoren uns bei der Unkenntnis über die Konstitution der untersuchten Stoffe so gut wie unbekannt sind, muss es wünschenswert sein, die Ergebnisse der Untersuchung auf allen zugänglichen Wegen zu erreichen. So habe ich die Rhodankaliumreaktion im Anfang meiner Untersuchung verwendet, als es mir darum zu tun war, das Vorhandensein von nachweisbarem Eisen im frischen Dotter oder dem Mikrotomschnitt durch das eingebettete Objekt überhaupt erst sicherzustellen. Dabei kam es ja nur darauf an, den Eintritt der Reaktion zu beobachten, wenn auch die rote Farbe gleich nach ihrem Auftreten wieder verschwand. Hinsichtlich der Methodik dieser Reaktion kann ich auf die Darstellung Zaleskis verweisen.

Über die beiden anderen Methoden, die Schwefelammonium- und die Berlinerblau-Reaktion, möchte ich vor einer Besprechung der von mir geübten Art ihrer Anwendung noch im allgemeinen bemerken, dass sie hinsichtlich ihrer Zuverlässigkeit nicht gleichwertig sind. Schneider (l. c.) und auch Smiechowski (l. c.) machen darauf aufmerksam, dass durch zu konzentrierte oder zu lange einwirkende Salzsäure aus dem Blutlaugensalz allein schon die sogenannte Eisenblausäure und hieraus wieder unter dem Einfluss des atmosphärischen Sauerstoffs Berlinerblau entstehen kann. Man kann sich sehr leicht

davon überzeugen, dass diese Befürchtung zu Recht besteht; wenn man nämlich zu etwa 25 ccm einer 1%igen Salzsäurelösung einen Tropfen einer konzentrierten Ferrocyankaliumlösung bringt, so entsteht bei Luftzutritt nach wenigen Stunden eine tiefblaue Färbung der Flüssigkeit. Damit während der Reaktion die Bildung von Berlinerblau auf diese Weise vermieden werde, ist nach Schneider streng darauf zu achten, dass die Salzsäurelösung, in welche die Objekte nach der Behandlung mit Blutlaugensalz kommen, stets wasserklar bleibt. Indes habe ich mich bei zahlreichen Versuchen, die Berlinerblau-Reaktion an ganzen Keimscheiben anzustellen, davon überzeugt, dass in manchen Fällen trotz der Befolgung der Vorschrift Schneiders Trugbilder entstehen, die nicht anders erklärt werden können, als durch die Annahme, es müsste im Objekt selbst eine solche trügerische Entstehung von Berlinerblau möglich sein, ohne dass man durch eine Verfärbung der Reaktionsflüssigkeit auf den Fehler aufmerksam gemacht würde. Ich habe hier Fälle im Auge, bei denen die Zellen in Keimscheiben, die in toto der Reaktion unterworfen wurden, einen diffusen bläulichen Farbton aufwiesen. Angesichts der Inkonstanz dieses Befundes und der Tatsache, dass er nur bei Anwendung der Berlinerblau-Reaktion auftrat, könnte ich mich nicht dazu entschliessen, von einer positiven Eisenreaktion in den Zellen solcher Keimscheiben zu sprechen. So muss ich auch auf Grund dieser technischen Erwägungen diejenigen Schlüsse, welche Smiechowski an das Auftreten der Reaktion in Entodermzellen und embryonalen Blutzellen geknüpft hat, als sehr unsichere bezeichnen.

Eine derartige Fehlerquelle beeinträchtigt die Anwendung der Schwefelammonium-Reaktion nicht und sie ist deshalb der Berlinerblau-Reaktion entschieden vorzuziehen. Nur dadurch erschwert sie eine histologische Untersuchung, dass sie die Fixierungsflüssigkeiten, die man für die zu untersuchenden

Objekte anzuwenden hat, auf eine kleine Zahl einschränkt; denn es dürfen natürlich weder chromhaltige Flüssigkeiten noch Sublimatgemische eingewirkt haben, da Chrom und Quecksilber mit Schwefelammonium selbst schwarze Niederschläge geben.

An dieser Stelle möchte ich den hauptsächlichen Einwand technischer Art gegen die Arbeit Smiechowskis erheben. Er ist darin begründet, dass Smiechowski die Berlinerblau-Reaktion allein benützte, ohne seinen Befund durch eine zweite Reaktion zu kontrollieren. Allerdings hat er auch mit Schwefelammonium als Eisen-Reagens zu arbeiten versucht, stand jedoch wieder davon ab, weil die Reaktion hier viel langsamer eintrete und bei weitem nicht so schön sei, wie die mit Ferrocyankalium und Salzsäure. Solche Bedenken hätten Smiechowski indes nicht davon abhalten dürfen, die zweite Reaktion wenigstens soweit mit zur Untersuchung heranzuziehen, dass sie ihm eine volle Bestätigung seiner mittels der Berlinerblau-Reaktion gewonnenen Resultate gebracht hätte. Denn wenn überhaupt nachweisbares Eisen in einem Gewebe vorhanden ist, muss es sich gemäss allen bisherigen Erfahrungen durch beide genannte Reaktionen nachweisen lassen, andernfalls die Resultate nicht als gesichert gelten dürfen. Diese Forderung ist grundsätzlich bei jeder mittels der makro- und mikrochemischen Eisenreaktion angestellten Untersuchung zu erheben.

Nach diesen Erwägungen allgemeiner Art wende ich mich einer kurzen Besprechung meiner Untersuchungsmethode zu. Um mich davon zu überzeugen, dass der Dotter des Hühnereies die Eisenreaktionen gibt, stellte ich zunächst Proben mit unverändertem Dotterbrei an, der frischgelegten Eiern mit einem Hornlöffel entnommen, in ein Reagenzrohr gebracht und mit etwas destilliertem Wasser verdünnt wurde. Von diesen Versuchen erscheint mir nur das eine erwähnenswert, dass die

Berlinerblau-Reaktion am Dotterbrei zunächst nur ganz schwach ausfiel, dass aber eine kräftige grünblaue Färbung in ihm dann auftrat, wenn er vorher mit Äther durchgeschüttelt worden war. Das rührt wohl daher, dass infolge der Entfernung der fettartigen Substanzen durch Ätherextraktion die wässerige Ferrocyankaliumlösung erst in die Dotterelemente eindringen kann und dadurch die Reaktion ermöglicht wird[1]).

Nach Erledigung dieser Vorfrage durch Reagenzglas-Versuche bestand meine Aufgabe darin, eine Art der Anwendung der Eisenreaktion auf den Dotter zu finden, die es ermöglichte, einerseits auf dem Durchschnitt durch die Dotterkugel über die Verteilung des Eisens in derselben ein Bild zu bekommen, andererseits auf Schnitten den makroskopischen Befund mit dem Mikroskop zu kontrollieren.

Der Erreichung dieses Zieles traten zunächst technische Schwierigkeiten entgegen, die in der Natur des Untersuchungsobjektes ihren Grund hatten. Während Stücke von Organen, selbst Keimscheiben, sich ohne vorherige Fixation mit den Eisen-Reagenzien behandeln lassen, ohne für morphologische Untersuchungen unbrauchbar zu werden, ist das bei nichtgehärtetem Dotter unmöglich; denn dem Ei entnommen, verliert er zum mindesten seine Form, beim geringsten Anstoss aber zerfliesst er infolge Verletzung der Dotterhaut. Auch das Hallsche Verfahren der Eisenreaktion, dessen sich Tarta-

[1]) Als ich diese Erfahrung später bei Anstellung der Berlinerblau-Reaktion an ganzen Keimscheiben verwertete und diese, nachdem ich sie fixiert und durch die Alkoholreihe geführt hatte, auf einige Stunden in Äther legte, trat an ihnen die Reaktion in einer Intensität auf, wie sie ohne vorherige Ätherbehandlung nicht erzielt werden konnte. Jedoch musste ich an den Schnitten durch solche Keimscheiben dann erkennen, dass neben den Dotterelementen alle Zellen eine ganz gleichmässige diffuse Färbung aufwiesen. Dieses Resultat, welches natürlich im Sinne einer spezifischen Reaktion nicht verwertbar ist, legt die Vermutung nahe, dass Äther bei länger dauernder Einwirkung die eisenhaltigen Verbindungen löst und im Gewebe verschleppt, eine Frage, welche praktische Bedeutung gewinnt, wenn man Celloidinschnitte der Eisenreaktion unterziehen will.

kowsky (15) mit Erfolg bediente, eignet sich nicht für den Dotter, so empfehlenswert es mir sonst erscheint. Es besteht darin, dass die frischen Objekte auf 24 Stunden in 70%igen Alkohol gelegt werden, dem auf 100 Teile 5 Teile Schwefelammonium zugesetzt sind (Hallsche Flüssigkeit). Danach überträgt man sie auf weitere 24 Stunden in Alkohol absolut., der mit einigen Tropfen Schwefelammonium versetzt ist (Zaleski). Der Vorteil dieser Methode liegt darin, dass sie zugleich mit der Reaktion eine genügende Härtung der Objekte ermöglicht. Frische Dotter, welche nach Hall behandelt werden, färben sich schon nach wenigen Minuten intensiv dunkelgrün und behalten auch ihre Form, aber die Flüssigkeit dringt nur bis zu einer gewissen Tiefe ins Innere, so dass man nicht erwarten kann, ein richtiges Durchschnittsbild zu bekommen. Auch länger als 24 Stunden dauerndes Verweilen der Dotter in der Reaktionsflüssigkeit führt nicht zur völligen Durchdringung mit derselben; wenigstens kann man nie sicher sein, ob Abstufungen der Reaktion gegen das Centrum des Dotters hin nicht doch auf mangelhaftes Eindringen des Alkohols vielleicht auch auf eine Abschwächung des Reagens während des Eindringens zurückzuführen sind. Mit der Möglichkeit, durch diese beim Dotter allerdings offenkundige, bei anderen Objekten aber vielleicht nicht so leicht erkennbare Fehlerquelle irregeführt zu werden, hat man meines Erachtens immer zu rechnen, wenn man ganze Objekte der Eisenreaktion unterwirft.

Um nicht darauf verzichten zu müssen, Dotter zu untersuchen, die noch nicht durch Behandlung mit Fixierungsflüssigkeiten eine chemische Veränderung erfahren hätten, blieb mir nur übrig, durch Kochen gehärtete Dotter zu verwenden. Die zweite Möglichkeit, welche bei anderen schwer durchdringbaren Objekten bestände, wäre die Anfertigung von Gefrierschnitten, die dann in die Hallsche Flüssigkeit gebracht

werden könnten. Es ist klar, dass dieses Verfahren beim Dotter nicht anwendbar ist.

Das Erhärten des Dotters durch Kochen des ganzen Hühnereies bietet aber einen weiteren Vorteil. Indem der Dotter innerhalb des koagulierenden Eiweissmantels erhärtet, ist es ganz ausgeschlossen, dass er die geringste Formveränderung erleidet. Sie tritt dagegen immer ein, wenn man den Dotter in noch so rasch eindringende Fixierungsflüssigkeiten legt. Jede Formveränderung ist aber gleichbedeutend mit Massenverschiebungen im Innern der Dotterkugel und sobald solche stattgefunden haben, kann man nicht mehr auf ein Durchschnittsbild rechnen, auf dem die einzelnen Dotterelemente in ihrer natürlichen Lage zueinander sowohl wie zur Peripherie und zum Centrum sich befinden.

Die gehärteten Dotter halbierte ich mit einem Rasier- oder Mikrotom-Messer [1]) und legte die beiden Hälften in die Hallsche Flüssigkeit. Die Reaktion trat bei diesen Objekten nicht so rasch ein wie bei den ganz frischen nicht gehärteten Dottern und erreichte ganz allmählich während 24 Stunden ihre maximale Intensität, welche hinter der bei ungehärteten Dottern erzielten um Merkliches zurückblieb. Zwar konnte ich auch hier nicht erwarten, dass das Reagens das ganze Stück durchdringen würde, aber die Durchschnittsfläche war der Einwirkung des Schwefelammoniums in allen ihren Teilen gleichmässig ausgesetzt.

Das so durch die Schwefelammonium-Reaktion gewonnene Bild lässt sich nicht durch Paraffin- oder Celloidineinbettung der mikroskopischen Betrachtung zuführen; denn die schwarzgrüne Färbung, welche durch die Reaktion im Präparat entstanden ist, verschwindet während der Einbettung wieder voll-

[1]) Eine kurzdauernde Berührung der Objekte mit dem Messer beeinflusst die Reaktion nicht, was auch Schneider und Smiechowski erwähnen.

ständig, indem eine Verwandlung des schwarzen Schwefeleisens (FeS) in $Fe(OH)_2$ vor sich geht (Tartakowsky).

Ein Verfahren, welches den Zweck hat, das leicht zersetzliche Schwefeleisen in eine beständige Verbindung — Berlinerblau — überzuführen, stammt von Tartakowsky (l. c.): „Dazu werden die Organstücke aus dem Spiritus genommen, leicht in destilliertem Wasser ausgewaschen, um das überschüssige Schwefelammon abzuwaschen und dann für 15 bis 20 Minuten — grössere Stücke für eine halbe Stunde — in $1^1/_2$%ige Ferrocyankaliumlösung gelegt. Aus dem Ferrocyankalium werden die Organe für 5—10 Minuten in eine schwache (0,45%ige) Salzsäurelösung gebracht. Ist viel Eisen vorhanden, so beginnen die Organe sich sehr schnell blau zu färben. In HCl scheinen die Gewebe etwas trüb; wenn die Präparate jedoch einige Stunden in destilliertem Wasser verweilt haben, so nehmen sie eine sehr schöne Blaufärbung an, deren Intensität ganz der ursprünglichen Intensität der Schwefelammonreaktion entspricht."

„Sobald das Eisen in den Organen in Form von Berlinerblau zum Vorschein gebracht ist, kann man dieselben jeder beliebigen Behandlung unterwerfen, ohne befürchten zu müssen, dass die Intensität der Reaktion verändert oder schwächer werde."

Diese Methode liess sich auch auf den Dotter anwenden und ich erzielte damit die gleichen Resultate wie Tartakowsky.

Indes war es nicht zu vermeiden, dass die Dotterstücke in der wässerigen Ferrocyankaliumlösung zerfielen und so konnten nur immer kleine Stücke eingebettet und zur mikroskopischen Untersuchung weiter verarbeitet werden. In diesem Zusammenhang möchte ich erwähnen, dass Zaleski merkwürdigerweise alkoholische Lösungen von Ferrocyankalium empfiehlt; solche anwenden zu können, wäre für meine Unter-

suchung natürlich sehr vorteilhaft gewesen, aber Ferrocyankalium ist in Alkohol, wenigstens in den erforderlichen und auch von Zaleski angegebenen Verhältnissen, unlöslich.

Wollte ich nun zur Untersuchung mit der Lupe oder dem Mikroskop auch möglichst vollständige Schnitte durch eine Dotterkugel gewinnen, so konnte ich dazu nur auf dem Wege der Fixierung ganzer Dotter gelangen, die dann in Celloidin eingebettet und geschnitten wurden. Diese Schnitte erst wurden der Reaktion unterworfen. Als Fixierungsflüssigkeit eignete sich für diesen Zweck am besten das rasch eindringende Carnoysche Gemisch. Formol und Salpetersäure härten den Dotter nicht in genügender Weise und Sublimat- und Chromgemische waren aus dem erwähnten Grunde zu vermeiden.

Als Schnittreaktion wandte ich wiederum Schwefelammonium, Rhodankalium und die Berlinerblau-Reaktion an. Letztere in der von Perls angegebenen Art, wobei der Schnitt auf 5 Minuten in etwa 25 ccm einer 1%igen Salzsäurelösung gelegt und dann ein Tropfen einer frischbereiteten, kalt gesättigten wässerigen Ferrocyankaliumlösung zugesetzt wird. Die blaue Farbe tritt nach Umrühren der Reaktionsflüssigkeit in wenigen Sekunden ein.

## Befunde.

Bevor ich in die Darstellung meiner Befunde eintrete, muss ich mich mit dem Resultat der Arbeit Smiechowskis auseinandersetzen.

In Berücksichtigung der Bungeschen Analysen und der Mitteilung Schneiders gibt Smiechowski zwar aus-

drücklich zu, dass der ganze Dotter in allen seinen Elementen eisenhaltig sein müsse, kommt aber auf Grund seiner mikrochemischen Untersuchung zu dem merkwürdigen Ergebnis, dass der Nachweis des Eisens durch die mikrochemische Reaktion nur am weissen und nicht am gelben Dotter gelinge und das ganze eisenhaltige Material des weissen Dotters in den Megasphären enthalten sei.

Smiechowski sah die Eisenreaktion in den untersuchten Keimscheiben immer nur an einzelnen Dotterkugeln des Keimwalls positiv ausfallen. Dieser Befund veranlasste ihn, solche Keimwallelemente für eine besondere, eben durch den positiven Ausfall der Berlinerblau-Reaktion charakterisierte Art von Dotterkugeln, nämlich für die von His (7) beschriebenen Megasphären anzusehen.

Die Eisenreaktion hält er demnach für geeignet, die Megasphären im Dotter zur Anschauung zu bringen und zugleich ihre physiologische Bedeutung aufzuklären, die in einer Übermittelung des Eisens aus dem Dotter in die embryonalen Blutzellen bestehe.

Zu dieser Anschauung über die Bedeutung der Megasphären wurde Smiechowski durch folgenden Gedankengang geführt: Wenn das Eisen in den übrigen Dotterelementen, in denen es sogar in relativ grosser Menge vorhanden sein muss, nicht nachgewiesen werden kann, sondern nur in den Megasphären sich in einer der Reaktion zugänglichen Form befindet, so kann das nur durch eine Verschiedenheit in der Art der chemischen Verbindung des Dottereisens einerseits und des Megasphäreneisens andererseits verursacht sein. Es muss daher eine Umwandlung des Dottereisens in den Megasphären oder durch sie erfolgen, und zwar in eine Form der chemischen Verbindung, die den Übergang des Eisens aus dem Dotter in die Blutzellen ermöglicht und die Smiechowski mit dem Hämatogen Bunges (1) identifiziert.

Meine Befunde werden indes erweisen, dass Smiechowski durch eine unvollkommene Eisenreaktion irregeführt wurde und dass kein Grund besteht, eine solche im Ausfall der chemischen Reaktion in Erscheinung tretende Umwandlung des Eisens während seines Übergangs aus dem Dotter in die embryonalen Gewebe anzunehmen.

Damit werden auch die Angaben Smiechowskis über die Megasphären widerlegt sein.

Ich glaube aber, doch noch besonders darauf hinweisen zu müssen, dass Smiechowskis Auffassung von den Hisschen Megasphären schon an sich unzulässig ist.

His (l. c.) sagt von den Megasphären, denen er diesen Namen gab, um eine indifferente, der Diskussion Raum bietende Bezeichnung zu haben, dass sie „dieselben Elemente sind, welche seit Peremeschkos Arbeit von der Strickerschen Schule als Bildungselemente des mittleren Keimblattes in die Literatur eingeführt und als die vom Boden der Keimhöhle in den Keim eingewanderten Vorgebilde des mittleren Keimblattes gedeutet worden sind."

Daraus ist in eindeutiger Weise ersichtlich, dass man sich an die Auffassung Peremeschkos und einiger anderer Autoren wie Öllacher, Götte, Balfour und Foster halten muss, wenn man klar erkennen will, welche Gebilde mit dem Namen Megasphären zu bezeichnen sind. Von His selbst dürfen wir, auf dem Standpunkt der heutigen Entwickelungslehre stehend, nur den Namen entlehnen; denn er hat damals wenigstens die Megasphären unter dem Gesichtswinkel der Parablasttheorie betrachtet.

Die Beschreibung und die Abbildungen, welche Peremeschko (10), Öllacher (9), Götte (5), Balfour und Foster (4) von den Bildungselementen oder Dotterzellen (Götte) geben, lehren nun in übereinstimmender Weise, dass unter den Hisschen Megasphären die grossen, mit Dotter-

körnchen ganz erfüllten Kugeln zu verstehen sind, die man leicht am Boden der Keimhöhle des unbebrüteten und bebrüteten Eies wahrnimmt.

Götte zeigt ihre Entstehung aus dem Keimhöhlenboden durch „sekundäre Furchung" und legt ihnen infolgedessen wie auch schon Peremeschko und Öllacher den Wert von Furchungszellen bei.

Da die erwähnten Autoren glaubten, dass diese Elemente in den Keim einwandern, so identifizierten sie mit ihnen jene grossen granulierten Kugeln, die man zwischen den beiden Blättern des jugendlichen Keims zuweilen sieht.

Von späteren Autoren unterscheidet Kollmann (8) allerdings am Boden der Keimhöhle zwischen dottererfüllten Zellen und kugeligen Gebilden, die nur Dotterkonglomerate sind, und nennt letztere Megasphären. Da aber die Untersucher, auf welche sich His bei seiner Namengebung beruft, wie wir sahen, die Zellennatur der fraglichen Elemente betonen oder wenigstens postulieren, so hätte Kollmann den Begriff der Megasphäre nicht auf blosse Dotterkugeln übertragen dürfen. In diesem Zusammenhang ist seine irrige Anwendung der His schen Bezeichnung jedoch von Interesse, weil wir vielleicht vermuten dürfen, dass Smiechowski gerade dadurch von der richtigen Auffassung abgelenkt wurde.

Aus dem Dargelegten geht hervor, dass die His schen Megasphären vorerst nur durch ihre Lage am Keimhöhlenboden oder zwischen den Keimblättern charakterisiert sind. Dabei bleibt es indessen noch sehr fraglich, ob die Megasphären zwischen den Keimblättern mit jenen am Keimhöhlenboden wirklich identifiziert werden dürfen.

Auch dadurch erscheint mir die richtige Erkenntnis noch erschwert, dass in der Keimhöhle ganz sicher zu Kugeln zusammengeballte Dottermassen liegen, die nicht leicht von Dotter erfüllten Zellen, den Megasphären, zu unterscheiden

sind, weil die Darstellung des vielleicht wandständigen Kerns derselben nur selten einwandfrei gelingen dürfte und weil jedenfalls zahlreiche Schnitte durch einen so grossen Zelleib kernlos erscheinen müssen, während vielleicht auf einem nur der Kern getroffen ist.

So kann man es begreifen, dass Disse (2) alle am Keimhöhlenboden beschriebenen Elemente für Kunstprodukte erklärte, die bei der Fixierung des Eies durch Gerinnung des flüssigen Keimhöhleninhalts entstünden.

Man muss die His schen Megasphären also da aufsuchen, wo sie allein durch ihre Lage sicher als solche zu erkennen sind, nämlich am Boden der Keimhöhle und zwischen den Keimblättern.

Freilich kann man sich vorstellen, dass sie auch im Keimwall als dem ursprünglich peripheren Keimhöhlenbodenbezirk vorhanden sind, aber man darf nicht erwarten, dass es möglich ist, sie aus den anderen Keimwallelementen herauszufinden.

Smiechowski hat indes seine Megasphären nur im Keimwalle gezeigt, und so kann man schon von vorneherein bestreiten, dass er echte Megasphären gesehen hat. Demnach entbehrt auch die von ihm abgebildete „typische Megasphäre" jeder Beweiskraft, um so mehr, als sie ganz den Typus gewisser Dotterelemente repräsentiert, wie ihn Dubuisson (3) festgestellt hat.

Ihres Zusammenhangs mit der Megasphären-Frage entkleidet, bedeuten Smiechowskis Befunde lediglich, dass er in einzelnen Elementen des weissen Dotters Eisen nachgewiesen hat.

Demgegenüber besteht das Ergebnis meiner Untersuchung darin, dass ich den Nachweis des Eisens nicht nur in allen Elementen des weissen, sondern auch im gelben Dotter führen konnte.

In Figur 1 ist ein senkrecht zur Verbindungslinie zwischen animalem und vegetativem Pol und annähernd äquatorial geführter Schnitt durch die Dotterkugel eines Hühnereies wiedergegeben. Der Schnitt stammt von einem in toto mit Carnoyschem Gemisch fixierten und ebenfalls ganz in Celloidin eingebetteten Eidotter, der dann in der angegebenen Richtung in Serienschnitte zerlegt wurde. Einzelne Schnitte wurden den Eisenreaktionen unterworfen. In dem abgebildeten ist das Eisen in Form von Berlinerblau zur Anschauung gebracht. Selbstverständlich zeigen Schnitte, die mit Schwefelammonium oder Rhodankalium behandelt wurden, das Wesentliche des vorliegenden Bildes in ganz gleicher Weise. Die Abbildung wurde bei Lupenvergrösserung hergestellt und es ist genau die durch die Reaktion erzeugte Farbe wiedergegeben. Dass der Schnitt nicht ganz vollständig ist, erklärt sich aus der grossen Brüchigkeit, die dem fixierten Dotter eigen ist.

Die Betrachtung dieses Schnittes ergibt nun, dass die für die angewandte Eisenreaktion charakteristische blaugrüne Farbe in seiner ganzen Ausdehnung überall eingetreten ist.

Ein central gelegenes, unregelmässig geformtes und gegen die angrenzenden helleren Teile nur unscharf begrenztes Feld und ferner am natürlichen Rande des Schnittes ein schmaler Grenzsaum erscheinen dunkler gefärbt als die übrigen Partien.

In dieser Weise, also nur in einem stärkeren und schwächeren Ausfall der Eisenreaktion, die für den gesamten Dotter positiv ist, unterscheiden sich der weisse und der gelbe Dotter; denn in Übereinstimmung mit der bisherigen Kenntnis von der Verteilung des weissen und gelben Dotters im Ei und auf Grund der bei stärkerer Vergrösserung vorgenommenen Analyse der Formelemente des Präparates dürfen wir in dem dunklen centralen Feld den Querschnitt der Latebra und in dem Randsaum die gleichfalls aus weissem Dotter bestehende

Rindenschicht des Eies erkennen, während die übrige Schnittfläche dem gelben Dotter entspricht.

Eine Erklärung für das verschiedene Verhalten des gelben und des weissen Dotters gegenüber der Eisenreaktion zu geben, ist nicht möglich. Man kann zwar an eine Verschiedenheit in der chemischen Verbindung des Eisens im gelben und im weissen Dotter denken. Aber einfacher und näher gelegen erscheint mir die Annahme, dass im gelben Dotter auf demselben Raum weniger Eisen vorhanden ist als im weissen, die Farbe der Reaktion hier gewissermassen dünner aufgetragen ist und deshalb heller erscheinen muss; denn man darf wohl sagen, dass der gelbe Dotter mit seinen grossen granulierten Elementen eine geringere Kompaktheit der Zusammensetzung aufweist als der aus homogenen, stark lichtbrechenden Kugeln bestehende weisse.

Zur Betrachtung des Dotterschnittes zurückkehrend, bemerken wir, dass der zwischen dem centralen Feld und dem Randsaum gelegene schwächer gefärbte Teil desselben kein durchaus gleichmässiges Aussehen besitzt. Indem darin hellere und dunklere zirkuläre Zonen aufeinanderfolgen, erscheint die Fläche mehr oder minder deutlich gestreift. Diese Streifung der Schnittfläche ist der Ausdruck der konzentrischen Schichtung, welche die Dotterkugel bei der Gerinnung annimmt. Sie ist am vorliegenden Präparat nicht besonders gut ausgeprägt, wird aber gewöhnlich an fixierten Dottern noch weniger deutlich gefunden. Hingegen erscheinen Schnitte von Dottern, die durch Kochen des ganzen Hühnereies gehärtet wurden, oft in ganz regelmässiger Weise konzentrisch geschichtet; diese Struktur tritt nach Vornahme der Eisenreaktion noch deutlicher hervor. In Fig. 2 habe ich einen makroskopischen Schnitt von einem solchen Dotter wiedergegeben, an dem die Schwefelammonium-Reaktion ausgeführt wurde.

Der bekannte schematische Schnitt durch das ganze

Hühnerei, der von Allen Thomson (16) stammt und aus der Entwickelungsgeschichte von Foster und Balfour (l. c.) in O. Hertwigs (6) Entwickelungslehre des Menschen und der Wirbeltiere übernommen wurde, stellt den zwiebelschalenartigen Bau der Dotterkugel dar, indem dünne konzentrische Lagen weissen Dotters in den gelben eingezeichnet sind, ganz so wie man es, allerdings nicht immer, im hartgekochten Ei sieht.

Die in diesem Schema veranschaulichte gebräuchliche und auch von Waldeyer (17) in O. Hertwigs Handbuch der Entwickelungsgeschichte vertretene Auffassung, dass abwechselnd aufeinanderfolgende Lagen weissen und gelben Dotters dessen konzentrische Schichtung bedingen, bestätigen meine Präparate nicht.

Weder vermittels des Unterschieds im Ausfall der Eisenreaktion noch auch bei mikroskopischer Betrachtung lässt sich ausser im Centrum und an der Peripherie weisser Dotter in den Schnitten nachweisen.

Es ist gar nicht leicht, ein sicheres Urteil sich darüber zu bilden, welche morphologische Grundlage die Streifung in einem Dotterschnitt wie dem vorliegenden und damit die konzentrische Schichtung des gelben Dotters überhaupt bedingt.

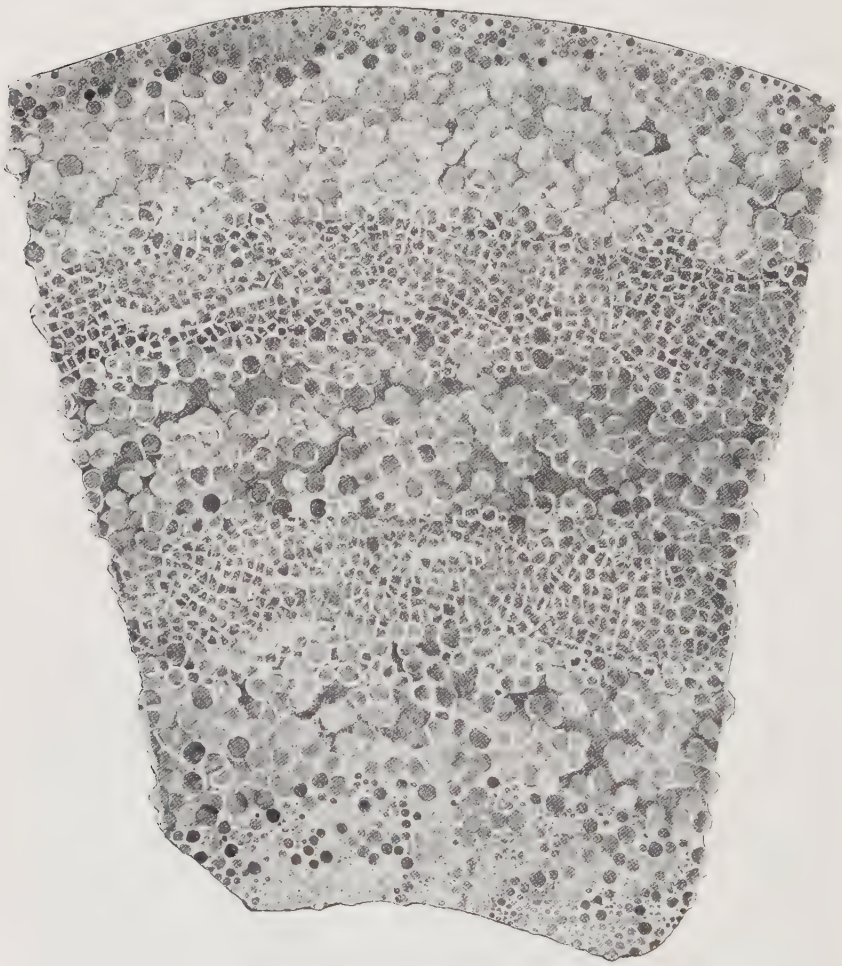
Insbesondere sind es die Folgen der Härtung, welche die Einsicht in diese Verhältnisse erschweren. Vor allem beobachtet man bei noch so sorgfältiger Behandlung des Objektes stets eine mehr oder minder weitgehende Formveränderung der Dotterkugel; deren Folge muss aber eine Massenverschiebung der Dotterbestandteile sein und es ist ohne weiteres klar, dass die Ordnung derselben dadurch eine hochgradige Störung erleiden wird, indem die ursprünglich konzentrisch übereinander gelagerten Schichten zusammengepresst oder aneinander vorbeigeschoben werden können. Dazu kommt dann das Auftreten von ansehnlichen Vakuolen innerhalb der Dottermasse, deren einige auch auf dem vorliegenden Schnitt zu sehen sind.

Die Entstehung derartiger zirkumskripter Flüssigkeitsansammlungen geht aber einher mit einem Auseinanderweichen der Dotterkugeln, die an Stelle der sich bildenden Vakuolen gelegen waren, und bei der Zahl der im Dotter beobachteten Vakuolen ist diese zweite Ursache einer Verschiebung der Dotterteilchen nicht gering zu achten. Ferner sind fein granulierte, im übrigen strukturlose Massen da und dort zwischen den Dotterelementen und in der Umgebung der Latebra zu sehen und diese Beobachtung legt die Annahme nahe, es könnte bei der Härtung des Dotters und der dabei eintretenden Schrumpfung seiner Elemente eine Abscheidung von Flüssigkeit mit darin suspendierten Granula zwischen die Dotterelemente hinein erfolgen. Und auch diese Veränderung müsste den Einblick in die ursprüngliche Anordnung der Bestandteile des gelben Dotters erschweren.

Solche Erwägungen könnten den Untersucher zunächst dazu veranlassen, die konzentrische Schichtung des Dotters überhaupt für eine Folge der Härtung, also für ein Kunstprodukt zu erklären.

Eine genaue Analyse von Dotterschnitten lässt aber mit hinreichender Deutlichkeit erkennen, dass die Streifung da, wo sie in derselben Form wie am gekochten Dotter auftritt, ihre Ursache in einer wirklichen schichtenweise auftretenden Verschiedenheit der Zusammensetzung des gelben Dotters hat. Man sieht nämlich, dass dessen Elemente nicht durchaus gleichgeartet sind, sondern dass Schichten relativ kleiner dicht aneinander gelagerter polygonaler Elemente anderen gegenüberstehen, in welchen annähernd doppelt so grosse, ebenfalls polygonale und oft auch runde Elemente liegen. Solche Lagen, worin die grossen Elemente sich befinden, sind noch dadurch gekennzeichnet, dass sie streckenweise aus völlig ungegliederter Dottermasse bestehen, in der dann, wie in ausgesparten Hohlräumen, die grossen granulierten Kugeln liegen.

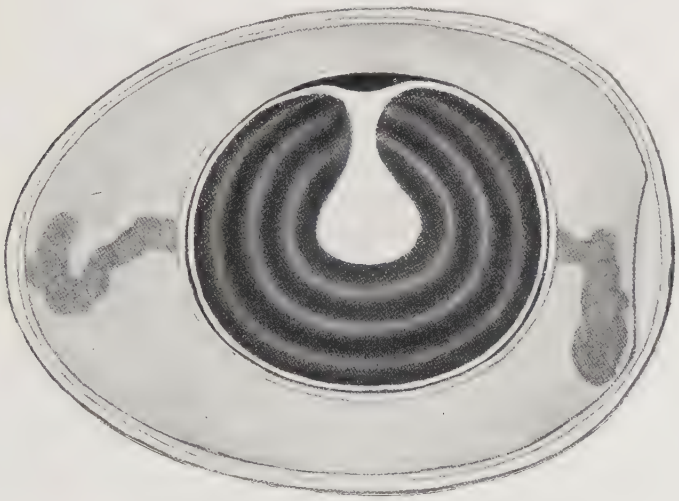
Die Textfigur 1 stellt einen Sektor aus einem Dotterschnitt dar und zeigt bei schwacher mikroskopischer Vergrösserung, wie auf die aus weissem Dotter bestehende Rindenschicht zu-



Textfigur 1. (Halbschematisch.)

nächst eine Lage grosser Elemente gelben Dotters folgt, wie sich an diese eine solche mit kleinen polygonalen Elementen anschliesst, und wie dieser wiederum eine Schichte mit grossen

und weiter eine Schichte mit kleinen Elementen anliegt, bis endlich nach innen wieder grosse Elemente die Latebra mit ihren dem weissen Dotter angehörenden Kugeln umgeben. In Berücksichtigung dessen, was oben über die Schwierigkeit der Analyse dieser Strukturverhältnisse gesagt wurde, ist es wohl verständlich, dass ein und derselbe Dotterschnitt die konzentrischen Schichten im gelben Dotter nicht mit der Klarheit zeigen kann, wie sie hier aufgezeichnet sind und dass



Textfigur 2.

die vorliegende Figur unter möglichst weitgehender Anlehnung an die wirklichen Bilder nur durch Verwertung mehrerer Dotterschnitte gewonnen werden konnte, also halbschematisch genannt werden muss.

Ich gebe diese Abbildung auch nur in der Absicht, die morphologische Grundlage der konzentrischen Schichtung der Dotterkugel zu zeigen, die eben nicht durch konzentrisch miteinander abwechselnde Lagen von gelbem und weissem Dotter zustande kommt, sondern von den beschriebenen Strukturverhältnissen des gelben Dotters verursacht ist. Dabei möchte

ich aber nur auf die Grössenunterschiede der einzelnen Elemente des gelben Dotters als auf das prinzipielle Unterscheidungsmerkmal seiner verschiedenen Lagen hingewiesen haben, nicht aber auf die Unterschiede in der Form derselben; denn ich weiss wohl, dass es von der Art der Behandlung des gelben Dotters abhängt, ob seine Bestandteile im Präparat rund oder polygonal erscheinen. Auch will ich mit der vorliegenden Abbildung keine bindende Angabe über die Zahl der im Dotter vorhandenen Schichten machen, weil diese meiner Erfahrung nach nicht konstant ist und zu einer genauen Feststellung dieser Verhältnisse eine grössere Anzahl von Untersuchungsobjekten nötig wäre, als ich im Hinblick auf das eigentliche Ziel meiner Untersuchung verarbeitet habe.

Bei der schematischen Darstellung eines Durchschnitts durch das Hühnerei müsste man in Hinsicht auf die mitgeteilten Befunde die konzentrische Schichtung des Dotters in der Art angeben, dass hellere und dunklere Streifen, die nicht durch scharfe Konturen voneinander getrennt sein dürften, in der dem weissen Dotter gegenüber einheitlichen gelben Dotterschicht abwechseln. Ich habe in der nebenstehenden Figur (Textfig. 2) versucht, ein solches Schema zu geben, indem ich mir erlaubte, den gebräuchlichen Durchschnitt durch das Hühnerei in der geforderten Weise abzuändern.

Die konzentrische Schichtung kommt demnach im Hühnerdotter auf die gleiche Art zustande wie im Dotter der Eier von Torpedo. Nach der Beschreibung, welche Rückert (11) von diesen Dottern gegeben hat, wechseln hier am Schnitt gleichfalls Schichten grösserer Dotterblättchen mit solchen ab, die aus kleineren bestehen. Somit geht die strukturelle Übereinstimmung zwischen dem Vogelei und dem Selachierei noch weiter als Rückert annehmen konnte. Nicht nur die konzentrische Schichtung des Nahrungsdotters überhaupt ist beiden gemeinsam, was Rückert eben hervorgehoben hat, sondern

auch die morphologische Grundlage, auf der diese Struktur beruht, wenn sich auch die einzelnen Elemente der beiden Dotterarten wohl voneinander unterscheiden. Rückert hat an die „auffallende Tatsache", dass eine derartige Übereinstimmung zwischen dem Selachier-, speziell dem Torpedoei mit dem Vogelei besteht, die Frage angeknüpft, ob „die Ähnlichkeit nur dadurch hervorgerufen wird, dass die beiderlei Eier unter gleichen Bedingungen sich entwickeln, oder ob es sich um einen durch Vererbung auf das Vogelei übertragenen Vorgang handelt, mit einem Wort, ob eine Analogie oder Homologie vorliegt. Im letzteren Falle würde sich der Schluss ziehen lassen, dass das meroblastische Ei des Vogels resp. der Sauropsiden ein primär meroblastisches ist wie das Selachierei, und das Säugetierei kein tertiär, sondern ein sekundär holoblastisches wie das Amphibienei." Meine Befunde dürften diese von Rückert aufgeworfene Frage aufs neue anregen.

Das Ergebnis, welches ich bei der makro- und mikrochemischen Untersuchung des Dotters gewinnen konnte, bestätigte sich, als ich die Eisenreaktionen auf Hühnerkeimscheiben anwandte.

Fig. 3 stellt die Hälfte eines Querschnitts durch eine 20 Stunden bebrütete Keimscheibe dar, die nach Fixierung mit Hellys Gemisch in toto der Berlinerblau-Reaktion unterworfen wurde.

Der Schnitt, der mit Borax-Carmin gefärbt wurde, zeigt, dass sämtliche Dotterkugeln des Keimwalls die Farbe der Reaktion annehmen. Damit gewinnen meine Befunde eine Beziehung zur Frage nach der embryonalen Blutentwickelung.

Rückert (12) leitet nämlich aus der Tatsache, dass bei allen Anamniern die Blutentwickelung in engem räumlichen Zusammenhang mit dem Dotter steht und dieser für die Entstehung und Reifung der embryonalen Blutzellen offenbar notwendig ist, folgenden Satz ab: „Die erste Blutbildung der

Wirbeltiere ist deshalb an den Dotter (dotterhaltigen Entoblast) gebunden, weil dieser dem Blut bestimmte, für dasselbe notwendige Stoffe, wahrscheinlich den roten Blutzellen das Eisen, zuführt."

Für diese Annahme konnte ich mit Hilfe der mikrochemischen Eisenreaktion eine sichtbare Grundlage beibringen; man sieht auf dem abgebildeten Schnitt die Blutinseln dem Dotter als ihrem eisenhaltigen Nährboden aufliegen.

Ob fernere Versuche mit der Eisenreaktion an den embryonalen Geweben selbst eine weitere Erkenntnis von dem Zusammenhang zwischen dem Eisengehalt des Dotters und der embryonalen Blutbildung bringen werden, in dem Sinne, dass man den Übergang des Eisens in die Blutzellen zur Anschauung bringen kann, erscheint mir nach zahlreichen, sich über eine lange Zeit erstreckenden Untersuchungen noch sehr zweifelhaft.

Zum Schlusse möchte ich die Ergebnisse meiner Arbeit in folgenden Sätzen zusammenfassen:

1. Bei morphologischen Untersuchungen über den Eisengehalt von Organen und Geweben sind stets die beiden gebräuchlichen Eisenreaktionen (Berlinerblau- und Schwefelammonium-Reaktion) zur gegenseitigen Kontrolle anzuwenden. Ferner ist es erforderlich, die Reaktionen zuerst am frischen Objekt anzustellen, damit man sieht, ob und bis zu welchem Grade die am fixierten Material gewonnenen Resultate durch die Vorbehandlung beeinträchtigt werden. Den Reaktionen am ganzen Objekt — sei es frisch oder fixiert — müssen Kontrollversuche an Mikrotomschnitten gegenübergestellt werden.

2. Der makro- und mikrochemische Eisennachweis gelingt nicht bloss an den sogen. „Megasphären", wie Smiechowski angibt, sondern an sämtlichen Elementen des weissen und gelben Dotters des Hühnereies. Damit wird auch die Folgerung des genannten Autors, dass das Eisen bei seinem

Übergang aus dem Dotter in die Megasphären in eine andere chemische Verbindung, welche er mit dem Hämatogen Bunges identifiziert, umgewandelt werde, in sich zusammenfallen.

3. Der weisse Dotter unterscheidet sich vom gelben insoferne, als er sich mit den Eisen-Reagenzien intensiver färbt als dieser.

4. Die bei der Untersuchung des frischen und gehärteten Dotters angewandten Methoden des Eisennachweises zeigen sich vorerst ungeeignet zur einwandfreien Darstellung des Eisengehaltes der embryonalen Blutzellen.

5. Die konzentrische Schichtung der Dotterkugel des Hühnereies ist nicht bedingt durch konzentrisch miteinander abwechselnde Lagen von gelbem und weissem Dotter, sondern ist eine durch Strukturverhältnisse innerhalb des gelben Dotters hervorgerufene Erscheinung. Demgemäss ist eine Abänderung der bekannten von Allen Thomson stammenden schematischen Darstellung des geschichteten Baues des Hühnereies notwendig.

6. Die durch die angewandten Methoden erzielten Bilder vom Keimwall demonstrieren für das Hühnchen klarer als das bisher möglich war, den von Rückert betonten engen räumlichen Zusammenhang zwischen den embryonalen Blutinseln und stark eisenhaltigem Dotter.

# Erklärung der Tafelfiguren.

## Tafel 1.

Fig. 1. Schnitt durch einen in toto fixierten in Celloidin eingebetteten und senkrecht zur Verbindungslinie zwischen animalem und vegetativem Pol des Eies in Serienschnitte zerlegten Hühnerdotter. An dem vorliegenden Schnitt ist die Berlinerbalu-Reaktion ausgeführt. Er wurde bei Lupenvergrösserung gezeichnet.

R. Rindenschicht.
L. Latebra (Querschnitt).
G. Zone des gelben Dotters, in welcher konzentrische Streifung angedeutet ist.

Fig. 2. Makroskopischer Schnitt durch eine Dotterkugel, welche der Schwefelammonium-Reaktion unterworfen wurde.

Fig. 3. Hälfte eines Querschnittes durch eine 20 Stunden bebrütete Hühnerkeimscheibe, die in toto der Berlinerblau-Reaktion unterworfen und mit Boraxkarmin nachgefärbt wurde.

ec. Ectoblast, en. Entoblast, m. Mesoblast.
bi. Blutinseln, kw. Keimwall.

Fig. 1.

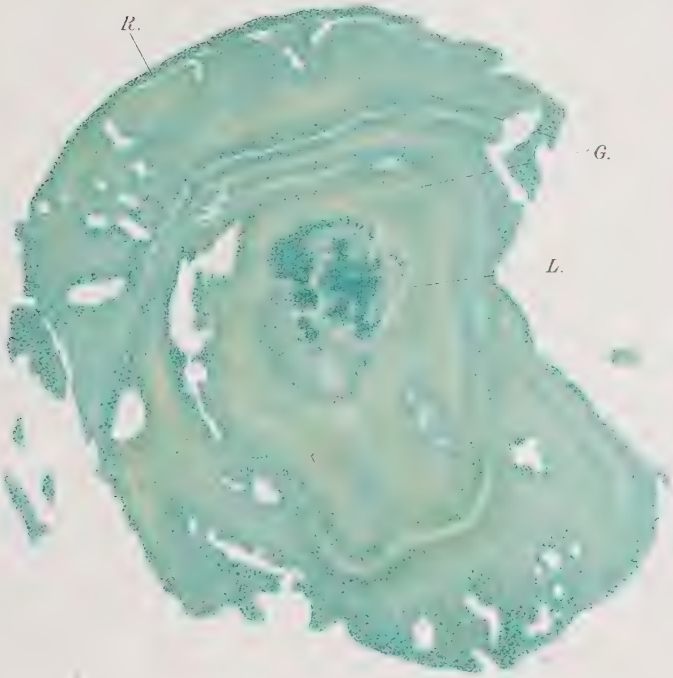



Fig. 2.

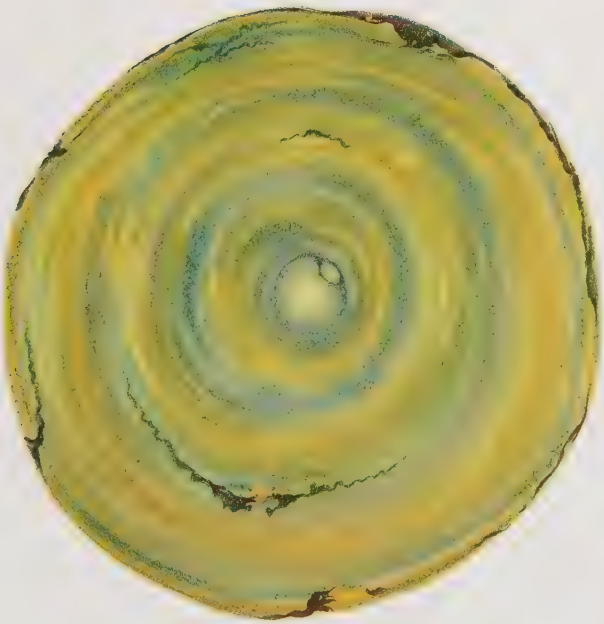
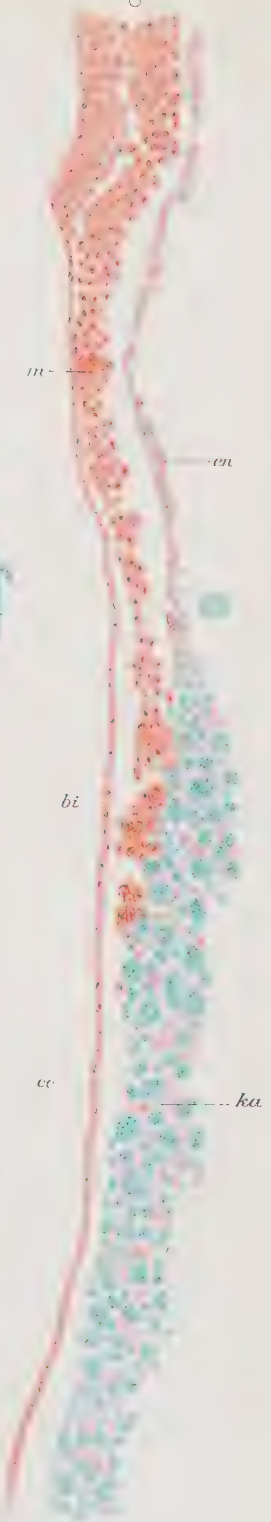


Fig. 3.



# Literaturverzeichnis.


1. Bunge, Über die Assimilation des Eisens. Zeitschr. f. physiol. Chemie. 9. Bd. 1885.
2. Disse, Die Entwickelung des mittleren Keimblattes im Hühnerei. Arch. f. mikroskop. Anat. 15. Bd. 1878.
3. Dubuisson, Etude de vitellus. Arch. de Zoologie expérim. 50. Bd. Paris 1906.
4. Foster und Balfour, Grundzüge der Entwickelungsgesch. d. Tiere. Deutsch von Kleinenberg. Leipzig 1876.
5. Goette, Beiträge zur Entwickelungsgeschichte der Wirbeltiere. Arch. f. mikrosk. Anat. 10. Bd. 1874.
6. Hertwig, O., Die Elemente der Entwickelungslehre des Menschen und der Wirbeltiere. 3. Aufl. 1907.
7. His, Neue Untersuchungen über die Bildung des Hühnerembryos. Arch f. Anat. u. Phys. 1877.
8. Kollmann, Der Randwulst und der Ursprung der Stützsubstanz. Arch. f. Anat. u. Entwickelungsgesch. 1884.
9. Oellacher, Untersuchungen über die Furchung und Blätterbildung im Hühnerei. Studien aus dem Institut f. exp. Path. zu Wien. Herausgeg. v. Stricker. 1. Bd. 1870.
10. Peremeschko, Über die Bildung der Keimblätter im Hühnerei. Sitzungsbericht d. math.-naturw. Kl. d. kais. Akad. d. Wiss. zu Wien. 1868.
11. Rückert, Die erste Entwickelung des Eies der Elasmobranchier. Festschrift zum 70. Geburtstag von Carl von Kupffer. Jena, Gustav Fischer. 1899.
12. Rückert und Mollier, Die erste Entstehung der Gefässe und des Blutes bei Wirbeltieren. Handb. d. vergl. u. exp. Entwickelungsgesch. d. Wirbeltiere. Herausg. von O. Hertwig 1906. 1. Bd. 1. Teil, 2. Hälfte.
13. Schneider, R., Über Eisenresorption in tierischen Organen und Geweben. Abh. d. kgl. Akad. d. Wiss. zu Berlin. 1888.

14. Smiechowski, Die Bedeutung der Megasphären in der Keimsch. des Hühnchens. Anat. Hefte. 2. Bd. 1893.

15. Tartakowsky, Die Resorptionswege des Eisens beim Kaninchen. Pflügers Arch. f. Phys. 100. Bd. 1903.

16. Thomson, Allen, Ovum in the cyclopaedia of anatomy and Physiol. Vol. 5. London 1859.

17. Waldeyer, Die Geschlechtszellen. Handbuch d. vergl. u. experim. Entwickelungsgesch. d. Wirbeltiere. Herausg. v. O. Hertwig. 1906. 1. Bd. I. Teil. 1. Hälfte.

18. Zaleski, Die Vereinfachung von makro- und mikrochem. Eisenreaktionen. Zeitschr. f. phys. Chemie. 14. Bd. 1890.